



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## **GRADO EN MEDICINA**

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

#### **SENESCENCIA CELULAR EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

#### **CELLULAR SENESENCE IN NEURODEGENERATIVE DISEASES**

**Autor/a:** Cantia Silvino Sánchez

**Director/es:** Noemí Rueda y Carmen Martínez-Cué

**Santander, junio de 2021**

# ÍNDICE

<b>RESUMEN / ABSTRACT / PALABRAS CLAVE</b>	<b>3</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>2. MATERIAL Y METODOLOGÍA</b>	<b>6</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>4. MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN LA SENESCENCIA CELULAR</b>	<b>7</b>
<b>4.1 CAMBIOS MORFOLÓGICOS</b>	<b>8</b>
<b>4.2 CAMBIOS MOLECULARES</b>	<b>8</b>
4.2.1 Vía intrínseca	8
4.2.2 Vía extrínseca	9
<b>4.3 LÍNEA TEMPORAL DE LA SENESCENCIA CELULAR</b>	<b>10</b>
<b>4.4 DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL Y ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS</b>	<b>12</b>
4.4.1 Disfunción mitocondrial	12
4.4.2 Acortamiento de telómeros	13
<b>4.5 ALTERACIÓN DE LA PROTEOSTASIS</b>	<b>13</b>
<b>5. SENESCENCIA CELULAR, ENVEJECIMIENTO CEREBRAL Y ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS</b>	<b>14</b>
<b>5.1 LA SENESCENCIA CELULAR EN LAS CÉLULAS GLIALES</b>	<b>15</b>
5.1.1 Astrocitos	16
5.1.2 Células de microglía	17
5.1.3 Oligodendrocitos	18
5.1.4 Otros tipos celulares	18
<b>6. SENESCENCIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)</b>	<b>19</b>
<b>6.1 MECANISMOS DE LA SENESCENCIA CELULAR IMPLICADOS EN LA EA</b>	<b>20</b>
6.1.1 Neuroinflamación	22
6.1.2 Cambios epigenéticos	23
6.1.3 Disfunción de la autofagia, lisosomas y mitocondrias	23
6.1.4 Acortamiento de los telómeros	24
6.1.5 Alteración de la proteostasis	24
<b>6.2 CÉLULAS GLIALES, SENESCENCIA CELULAR Y EA</b>	<b>24</b>
6.2.1 Astrocitos	24
6.2.2 Microglía	25
<b>7. SENESCENCIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP)</b>	<b>25</b>
<b>7.1 MECANISMOS DE LA SENESCENCIA CELULAR IMPLICADOS EN LA EP</b>	<b>26</b>
7.1.1 Neuroinflamación	26
7.1.2 Cambios en la expresión génica y epigenéticos	27
7.1.3 Disfunción de la autofagia, lisosomas y mitocondrias	27
7.1.4 Acortamiento de los telómeros	27
7.1.5 Alteración de la proteostasis	28
<b>7.2 CÉLULAS GLIALES, SENESCENCIA CELULAR Y EP</b>	<b>28</b>
7.2.1 Astrocitos	28
7.2.2 Microglía	29
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>30</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>32</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>33</b>

## **RESUMEN**

La senescencia celular, un proceso implicado en el mantenimiento de la integridad del organismo ante factores perturbadores de la homeostasis celular, tiene un papel fundamental durante el desarrollo. Sin embargo, cada vez hay más evidencia de su implicación en la aparición y agravamiento de enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP). Son múltiples los mecanismos celulares que intervienen en la aparición de la senescencia, entre los que destacan los cambios en la expresión génica, la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo, las alteraciones de la autofagia, de la actividad lisosómica y de la proteostasis, así como los cambios epigenéticos. Además, la alteración en el plegamiento de proteínas, como es el caso la proteína tau fosforilada, las placas de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) y la  $\alpha$ -sinucleína, que caracterizan a nivel anatomopatológico numerosas enfermedades neurodegenerativas, también está implicada en el desarrollo de la senescencia celular. Se trata de un tema cuya comprensión e investigación se encuentran en plena expansión y en este trabajo se resume la evidencia científica disponible sobre la implicación de la senescencia celular en la patogenia y progresión de algunas patologías neurodegenerativas.

## **ABSTRACT**

Cellular senescence, a process implicated in the maintenance of the integrity of the organism in the presence of factors that can alter cellular homeostasis, has a crucial role during development. However, there is increasing evidence of its implication in the onset and aggravation of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD). Among the multiple cellular mechanisms implicated in the onset of senescence are changes in gene expression, mitochondrial dysfunction and oxidative stress, alteration of autophagy, lysosomal activity and proteostasis, as well as the implication of epigenetic changes. Also, alterations in the folding of proteins such as phosphorylated tau protein,  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) plaques and  $\alpha$ -synuclein, that characterize several neurodegenerative diseases at an anatomopathological level, have been implicated in the development of cellular senescence. It is a theme whose understanding and research are in full expansion and this work aims to summarize the scientific evidence that is available.

## **PALABRAS CLAVE**

Senescencia celular; enfermedades neurodegenerativas; enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Parkinson.

## 1. INTRODUCCIÓN

Durante la última década numerosos estudios han demostrado que la senescencia celular es uno de los factores fundamentales implicados en la aparición y agravamiento de las enfermedades relacionadas con la edad y, en especial, de los trastornos neurodegenerativos. (1)

La senescencia celular es un proceso biológico, homeostático y esencial caracterizado por un estado irreversible en el que cesa la división celular debido al bloqueo en la entrada a la fase S del ciclo celular. (2) Este proceso es distinto a la quiescencia. La senescencia puede ser inducida por una serie de factores estresores que, en ocasiones, dan lugar a subtipos propios, tales como las producidas por el daño en el ADN, el estrés oxidativo (*Stress-Induced Premature Senescence, SIPS*), la activación oncogénica (*Oncogene-Induced Senescence, OIS*; de hecho, uno de los papeles fundamentales de la senescencia es actuar como mecanismo de defensa antitumoral), el acortamiento de los telómeros (senescencia replicativa), la exposición a radiación ionizante, el tratamiento con quimioterapia y ciertos inhibidores de la proteasa del VIH, así como la propia infección por VIH. (1) (3) Como se detallará más adelante, en todos los subtipos de senescencia se encuentra una alteración de las vías de la autofagia, de la activación lisosómica o de la función mitocondrial y cambios epigénéticos. (2) (3) Estos factores desencadenantes convergen en un daño en la molécula de ADN, por lo que generalmente se activa un sistema de reparación conocido como *DNA Damage Response* (DDR), cuya capacidad de reparación se ve comprometida conforme avanza la edad. Este proceso subyace a la decadencia del potencial regenerativo y funcional de los tejidos a nivel molecular, celular y tisular. (2) (4)

La senescencia puede entenderse como un final alternativo a la muerte celular. Aunque ambos procesos tienen un papel fundamental en el desarrollo embriológico, la reparación y regeneración de tejidos o en la reprogramación celular, y las células afectadas acumulan alteraciones funcionales y morfológicas, a diferencia de la apoptosis, las células senescentes permanecen metabólicamente activas. (3)

Los estudios pioneros sobre senescencia celular fueron realizados en la década de los 60 del pasado siglo por Leonard Hayflick y Paul Moorhead. (5) En sus estudios sobre los mecanismos moleculares que subyacen al envejecimiento describieron por primera vez el actualmente denominado límite de Hayflick, que corresponde con el número máximo de duplicaciones que puede experimentar una célula eucariota antes de ser incapaz de seguir replicándose, es decir, de entrar en senescencia. (1) (6) En experimentos realizados en fibroblastos humanos demostraron que a partir de un cierto número de divisiones ( $50 \pm 10$ ) estas células ingresaban en un estado irreversible de no división. Este fenómeno se denominó senescencia replicativa y posteriormente se demostró que era debido a que en cada replicación los telómeros se acortaban progresivamente. (1) Este fenómeno tiene lugar en otros tipos celulares proliferativos, como los melanocitos, queratinocitos, células epiteliales, endoteliales, adrenocorticales, linfocitos T y células madre de diversos tejidos. (1) Asimismo, se ha demostrado que incluso las células postmitóticas, como las neuronas, los cardiomiocitos, los osteocitos y los osteoclastos, pueden experimentar un cambio a un

estado fisiológico similar a la senescencia celular y que es inducido por los mismos factores que en los citados tipos de células proliferativas. (1) (7)

A pesar de que estas células pueden ser reconocidas por los linfocitos T colaboradores (*helper*) y eliminadas por los macrófagos y las células NK (*natural killer*), su número aumenta conforme lo hace la edad en humanos, primates y roedores. (2) La degeneración del sistema inmune, propia del envejecimiento, y su resistencia inherente a la apoptosis son determinantes en la acumulación de células senescentes. De este modo, este fenómeno podría tener un importante papel en el origen de numerosas patologías relacionadas con el envejecimiento. Estudios recientes llevados a cabo en modelos animales caracterizados por presentar senescencia celular acelerada han demostrado que estos presentan un envejecimiento prematuro y un aumento de la incidencia de enfermedades relacionadas con la edad, lo que apoya la idea de que la acumulación de este tipo de células contribuye al compromiso funcional que acontece con la edad y predispone al desarrollo de patologías degenerativas. (2) Por ejemplo, los condrocitos senescentes desempeñan un papel importante en el desarrollo de enfermedades como la artrosis o la degeneración de los discos intervertebrales. Además, se ha descrito la implicación de las células senescentes epiteliales, endoteliales y del músculo liso en la génesis de enfermedades cardiovasculares relacionadas con la edad como la aterosclerosis. (1) Por último, el hallazgo de un aumento de este tipo de células en distintas enfermedades neurodegenerativas sugiere que la senescencia celular está implicada en su fisiopatología. (3) (8)

## 2. MATERIAL Y METODOLOGÍA

Este trabajo de fin de grado se basa en una revisión bibliográfica de la evidencia científica disponible sobre la senescencia celular y su relación con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

Para llevarlo a cabo he utilizado tanto artículos disponibles en PubMed o Elsevier como libros de fisiopatología humana, revistas de divulgación científica y webs de sociedades científicas. Particularmente, la bibliografía revisada se ha centrado en:

- Características de la senescencia celular
- Mecanismos implicados en la senescencia celular
- Características de la enfermedad de Alzheimer (EA)
- Relación de la senescencia celular y la patogenia de la EA
- Características de la enfermedad de Parkinson (EP)
- Relación de la senescencia celular y la patogenia de la EP

Las búsquedas se han basado en los términos *cellular senescence + neurodegenerative disease*, *cellular senescence + Alzheimer's disease* y *cellular senescence + Parkinson's disease*, aunque en ocasiones se han empleado términos concretos de histonas o genes con el fin de dar sentido a los datos de los que disponía y facilitar la lectura.

## 3. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo ha consistido en agrupar la evidencia disponible sobre la implicación de la senescencia celular en la patogenia y progresión de la EA y la EP, dos de las principales patologías neurodegenerativas cuyo impacto a nivel de la salud pública mundial se prevé que aumentará conforme lo haga la población y la esperanza de vida.

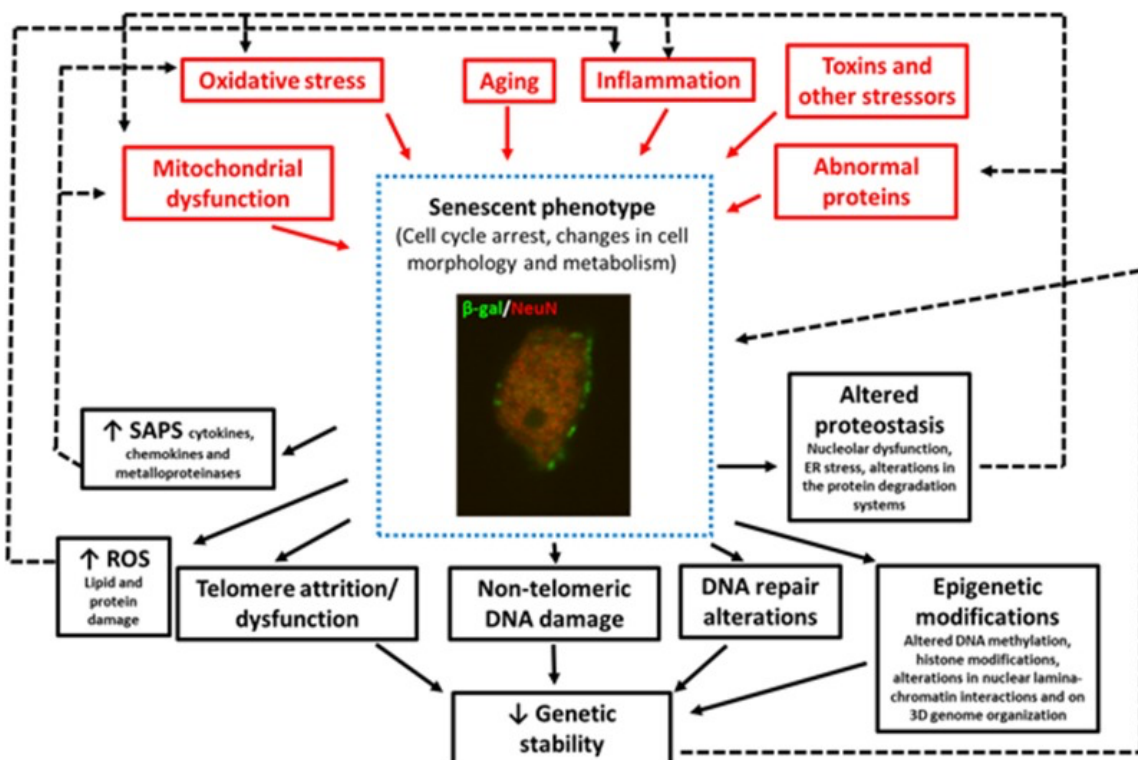
El entendimiento, tanto de la etiopatogenia como de las consecuencias de la senescencia celular, se encuentran en plena expansión, por lo que las teorías actuales que respaldan su implicación en el proceso de la neurodegeneración podrían confirmarse o ser refutadas en el transcurso de los próximos años.

La evidencia científica actual sobre la senescencia celular en el ámbito de las enfermedades neurodegenerativas es escasa, siendo necesarios más estudios que arrojen luz tanto a las vías moleculares implicadas en su desarrollo como a su papel en la patogenia de dichas enfermedades.

#### 4. MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN LA SENESCENCIA CELULAR

A lo largo de nuestra existencia, los seres vivos hemos puesto de manifiesto nuestra gran capacidad de adaptación ante los cambios ambientales e intracelulares que acontecen en determinados momentos. Concretamente, las células son capaces de activar distintas vías moleculares y metabólicas con el fin de asegurar su supervivencia cuando el microambiente que las rodea es perturbado por agresiones tanto extracelulares como intracelulares. Sin embargo, cuando el daño es crónico o irreparable la célula se somete al final de su estado fisiológico para mantener la integridad del organismo. En este punto, pueden tener lugar varios fenómenos celulares cuyo entendimiento ha supuesto uno de los grandes avances en el ámbito de la biología molecular y celular. En este sentido, dos de los procesos más relevantes son la inactivación del ciclo celular, hecho que recibe el nombre de senescencia, y la eliminación de las células alteradas, proceso conocido como muerte celular. A pesar de que son necesarios más estudios que ayuden a comprender los mecanismos implicados en la decisión de qué ruta emprender, se ha demostrado que la proteína p53, conocida por su función esencial en la regulación del ciclo celular, cumple un papel determinante. (7)

Las células senescentes expresan una serie de cambios moleculares y morfológicos que, aunque no sean patognomónicos de la senescencia, son determinantes para su caracterización. Al mismo tiempo, su manifestación depende del tipo de estímulo que desencadene el proceso y del tipo celular que se vea afectado. (7) La figura 1 muestra un resumen de las principales características de las células senescentes, así como sus causas, consecuencias y la retroalimentación entre ellas, que se desarrollarán en este apartado.



**Figura 1.** Imagen de una neurona granular (NeuN+) del hipocampo de un ratón de elevada edad que muestra características típicas de la senescencia celular, como expresión de SA-β-Gal

y cambios en su morfología. Esta figura resume los estímulos desencadenantes (en rojo) y las consecuencias (en negro) del incremento de células con fenotipos senescentes en trastornos neurodegenerativos. Las líneas punteadas representan los mecanismos de retroalimentación positiva que agravan el envejecimiento y la neurodegeneración. Tomado de Martínez-Cué C, Rueda N. Cellular Senescence in Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Neurosci.* 2020;14. (2)

#### 4.1 CAMBIOS MORFOLÓGICOS

En medios de cultivo las células senescentes presentan una morfología alargada, aplanada e irregular que, en ocasiones, se acompaña de múltiples núcleos y grandes vacuolas. (4) Estas alteraciones parecen estar causadas por el reordenamiento del citoesqueleto y por cambios en la composición de la membrana celular. (2) Además, las células senescentes expresan un aumento de la respuesta a proteínas mal plegadas (*Unfolded Protein Response, UPR*), que tiene como objetivo el restablecimiento de la homeostasis del retículo endoplásmico (RE) mediante la disminución de la carga de proteínas mal plegadas en su interior. (2) (3) (9) Esto lo hace a través de la vía ATF6 $\alpha$  (*Activating Transcription Factor 6 $\alpha$* ), responsable del aumento de tamaño del RE como respuesta al estrés celular y de la alteración en el tamaño y la morfología de las células senescentes. (2)

#### 4.2 CAMBIOS MOLECULARES

Tal como se describió en la introducción de este trabajo, la senescencia es un proceso dinámico que puede ser activado por diversos factores. Su naturaleza heterogénea dificulta la comprensión de los mecanismos celulares involucrados tanto en su inducción como en su progresión. (4) (7) Con el fin de sintetizar los elementos implicados y ayudar a su comprensión, los cambios que acontecen a nivel molecular pueden ser agrupados en dos vías: intrínseca y extrínseca.

##### 4.2.1 VÍA INTRÍNSECA

La vía intrínseca se encarga de establecer la detención del ciclo celular y su irreversibilidad. En esta vía están implicadas las proteínas p53, p21, p16<sup>INK4a</sup> y p19<sup>ARF</sup>, todas ellas producto de genes supresores de tumores, diversos micro-ARNs, encargados del silenciamiento génico, y cambios epigenéticos. (4) Además, p53 y p21 son las principales encargadas de determinar la resistencia a la apoptosis. (2)

Con respecto a los cambios epigenéticos, durante la senescencia se produce un reordenamiento espacial de la heterocromatina, en parte debido a la pérdida de laminina  $\beta$ -1 de la lámina nuclear, que es fundamental en el mantenimiento de esta estructura. (4) Asimismo, en algunas células senescentes se pueden observar focos de heterocromatina conocidos como SAHF (*senescence-associated heterochromatin foci*), ricos en proteína HP1 y en histonas tri-metiladas, como H3K9me3 y H3K27me3, que mantienen reprimida la transcripción de genes esenciales para la proliferación mediante la compactación de la cromatina. (4) Además, se han observado patrones de metilación alterados en el ADN. (10)



#### 4.2.2 VÍA EXTRÍNSECA

Por otro lado, la vía extrínseca está constituida por un fenotipo concreto expresado por las células senescentes denominado fenotipo secretor asociado a la senescencia o SASP (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*). Este cursa con un aumento de la síntesis de sustancias proinflamatorias, tales como citoquinas, quemoquinas, metaloproteasas, factores de crecimiento y otras moléculas de señalización responsables de los cambios que acontecen en la organización de la cromatina y en la expresión génica. (2) (6) (7)

Las citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-8 potencian la parada del ciclo celular a través del receptor CCR2, mientras que otras, como CSF-1 (factor estimulante de colonias de macrófagos), CCL2 (proteína quimiotáctica de monocitos) e IL-8, activan el sistema inmune innato con el fin de eliminar estas células senescentes. (1) (4) Este proceso recibe el término de *senescence surveillance*, uno de los mecanismos implicados en el papel represor que ejerce la senescencia sobre la carcinogénesis. (10)

Además, el SASP incluye otras proteínas con efectos más complejos a nivel celular, como es el caso de la Sfrp 1 (*Secreted Frizzled-Related Protein 1*), un modulador bifásico de la vía de señalización WNT que, junto con IL-6 e IL-8, es capaz de estimular o inhibir dicha vía dependiendo del momento fisiológico en el que se expresen. La activación crónica de la señalización WNT conduce a la senescencia tanto a las células diferenciadas como a las células madre. (1)

En la regulación de la secreción de los elementos que constituyen el SASP intervienen factores de la transcripción como CEBP $\beta$ , p53, GATA4 o NF- $\kappa$ b. Este último es el encargado de regular la expresión de los genes que codifican para las interleucinas IL-6 e IL-8. (4) Además, la proteína-quinasa p38MAPK, que regula la expresión del gen *NOTCH1*, produce un cambio en la composición del SASP en los primeros estadios de la senescencia. (4) (7)

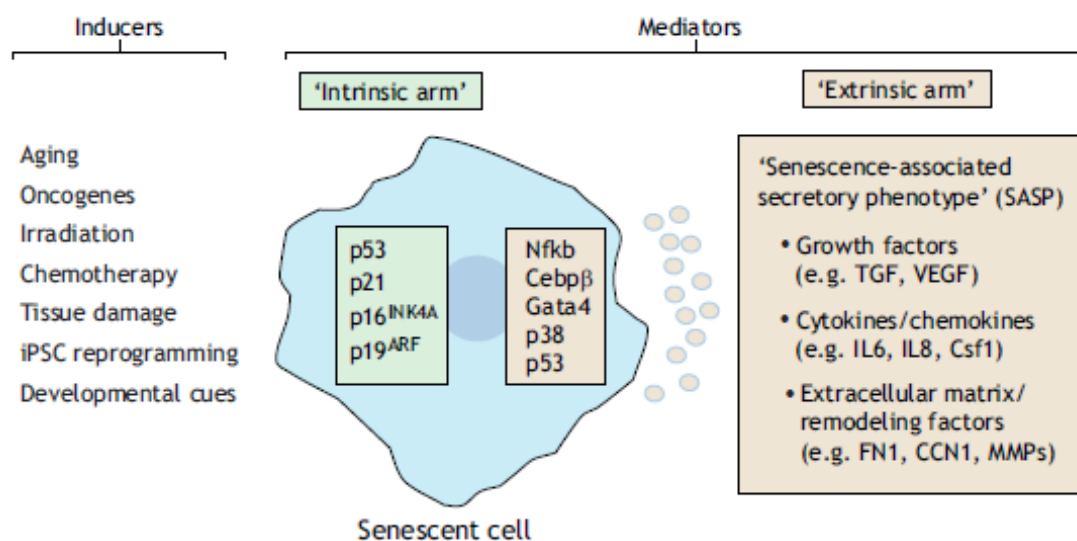
Por otro lado, durante la senescencia se producen cambios epigenéticos, como la relocalización de los genes *KMT2A* (que codifica la enzima histona-lisina N-metiltransferasa 2A o MLL1), *HMGB2* (que codifica la proteína 1 del grupo de alta movilidad) y H2AFJ (que codifica la histona H2A.J), entre otros. (4)

Finalmente, estudios recientes han identificado nuevos efectos del SASP más allá de su función represora de la carcinogénesis o su papel en el envejecimiento. Entre estos destacan la inducción de la proliferación celular a través de oncogenes relacionados con el crecimiento y la anfiregulina (AREG), el ligando del receptor del factor de crecimiento epidérmico (GFR), la angiogénesis, en la que participa el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y la transición epitelial-mesenquimal en las células adyacentes sanas o tumorales. (1) (4)

La exposición crónica a este ambiente pro-inflamatorio tiene un efecto paracrino, ya que es capaz de inducir la senescencia en las células adyacentes, previamente normofuncionantes. (4) Esta capacidad de propagar la senescencia a las células vecinas podría tener un importante papel en la génesis de las enfermedades relacionadas con

la edad, tanto degenerativas como hiperplásicas. (1) Sin embargo, la perpetuidad de este estado inflamatorio puede concluir con la acumulación de estas células e inducir el desarrollo de tumores. (10)

Una serie de estudios demostraron que diferentes mutaciones oncogénicas inducían la senescencia *in vivo* y que la inactivación de determinados componentes de la vía intrínseca, como la inhibición de la expresión de los genes de p53, p16<sup>INK4a</sup> y p19<sup>arf</sup>, prevenía la senescencia, dando paso a la proliferación de células potencialmente tumorales. Además, la re-expresión del gen p53 en tumores sólidos con baja expresión de éste reactivaba la senescencia en las células tumorales. Al expresar el fenotipo SASP, estas células eran eliminadas por el sistema inmune, poniendo de manifiesto que tanto la vía intrínseca como la extrínseca ostentan una función de barrera para la carcinogénesis. (4)



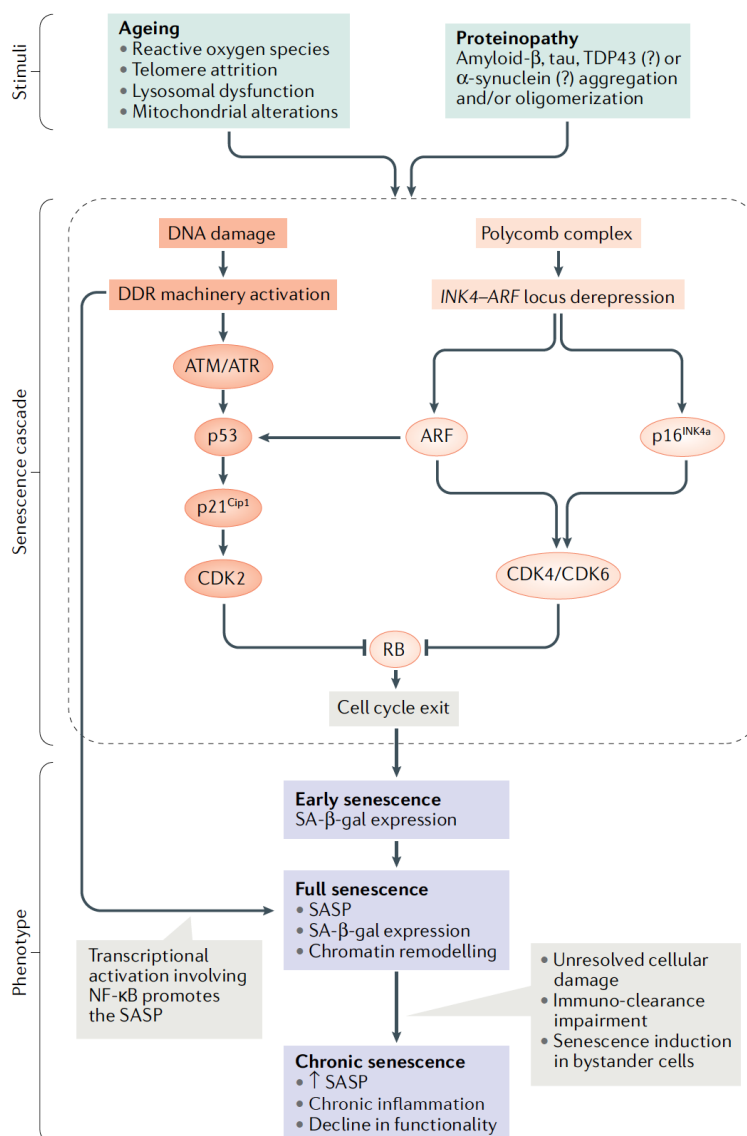
**Figura 2.** Descripción general de los mecanismos moleculares implicados en la senescencia celular. A la izquierda, los factores inductores; a la derecha, la vía intrínseca y la extrínseca como mediadores. La vía intrínseca incluye las proteínas p53, p21, p16<sup>INK4A</sup> y p19ARF, todas ellas producto de genes supresores de tumores. Estas establecen la detención del ciclo celular y coordinan el resto de las vías moleculares. Por otro lado, la activación de factores de transcripción y de señalización, como CEBPβ, p53, GATA4, NF-κB y p38, conforma la vía extrínseca, que es clave en la instauración del fenotipo SASP en las células senescentes. Este fenotipo se caracteriza por la secreción de sustancias proinflamatorias que posibilitan la interacción de éstas con las células vecinas. Tomado de Rhinn M, Ritschka B, Keyes WM. Cellular in development, regeneration and disease. Dev. 2019;146(20). (4)

### 4.3 LÍNEA TEMPORAL DE LA SENESCENCIA CELULAR

Como se ha descrito anteriormente, la senescencia celular puede ser activada por multitud de estímulos, por lo que su respuesta también es variable y resulta complicado diseccionar la línea temporal desde la inducción hasta la progresión de este fenómeno. Además, todavía no se ha determinado si dependiendo del tipo de factor inductor se ponen en marcha diferentes mecanismos o si todos convergen en un mismo punto a nivel celular. La mayoría de estos inductores, como el estrés oxidativo, la activación oncogénica, la radiación ionizante o la disfunción mitocondrial, confluyen

en el daño de la molécula de ADN, lo que activa la respuesta al daño del ADN (DDR). (7)

Las roturas que tienen lugar en la doble hebra de ADN son detectadas por complejos multiproteicos que se encargan de reclutar ATM (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) y ATR (*Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein*), proteínas serina/treonina quinasas que se activan en el lugar de la lesión y median la fosforilación de la histona  $\gamma$ H2AX. Esto da inicio a un bucle de retroalimentación positiva donde  $\gamma$ H2AX, en combinación con otros mediadores de la respuesta al daño del ADN como la proteína 1 de unión a p53, activa más proteínas quinasas ATM y ATR, conduciendo a una mayor fosforilación de H2AX. De esta manera  $\gamma$ H2AX se propaga a lo largo de la cromatina, llegándose a encontrar a 2 Mb del lugar de la lesión. Una vez que la actividad de las proteínas ATM y ATR supera cierto umbral, su fosforilación activa unas quinasas que controlan el ciclo celular: CHK1 y CHK2. Éstas se desplazan al núcleo, activando a p53, lo que a su vez activa la transcripción de p21<sup>Cip1</sup>, un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, que es capaz de bloquear la actividad de CDK2, una quinasa dependiente de ciclina 2. Esto conduce a la hiperfosforilación de pRb y al bloqueo de la entrada a la fase S del ciclo celular. (7) (11)



**Figura 3. Mecanismos celulares y características de las células senescentes implicados en el envejecimiento y la neurodegeneración.**

La senescencia celular puede ser desencadenada por multitud de estímulos relacionados con el envejecimiento, como las ROS, el acortamiento de los telómeros y la disfunción de los lisosomas y las mitocondrias, entre otros. Recientemente, se han relacionado con este proceso el depósito de A $\beta$  y la agregación de tau. El daño en el ADN y la desrepresión del locus INK4-ARF son dos de las principales señales capaces de inducir la senescencia. El daño en el ADN activa la DDR, lo que activa el eje p53-p21<sup>Cip1</sup>, que a su vez bloquea la actividad de CDK2 y da lugar a la hiperfosforilación de pRb y la salida del ciclo celular. La

desrepresión del locus INK4-ARF promueve la expresión de ARF, que previene la degradación de p53, y la expresión de p16<sup>INK4a</sup>, que inhibe CDK4 y CDK6 y conduce a la hiperfosforilación de pRb y la detención duradera del ciclo celular. Dado que estos dos mecanismos convergen en la hiperfosforilación de pRb se cree que las dos vías actúan juntas en la inducción y mantenimiento de la senescencia. Como consecuencia de la detención del ciclo celular, las células entran en una senescencia temprana que evoluciona a completa, caracterizada por el fenotipo SASP. Asimismo, la DDR regula la inducción del SASP mediante la activación del factor de transcripción NF-κB. Si las células senescentes no son eliminadas progresan a un estado de senescencia crónica, hecho que tiene lugar en el envejecimiento y la neurodegeneración. Para que esto ocurra es necesario el daño crónico, la degeneración del sistema inmune y la capacidad de las células senescentes para expandir la senescencia a las células vecinas. Tomado de Saez-Atienzar S, Masliah E. Cellular senescence and Alzheimer disease: the egg and the chicken scenario. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2020;21(8):433–44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41583-020-0325-z>. (7)

Conforme progresa el daño en el ADN, las células que han salido del ciclo celular experimentan un cambio a un estado senescente, mediado por la regulación positiva de p16<sup>INK4a</sup>, que inhibe la actividad de las quinasas CDK4 y CDK6 y conduce a la perpetuidad de la parada del ciclo celular. El locus del gen de p16<sup>INK4a</sup>, INK4-ARF, se encuentra normalmente reprimido en las células normales por proteínas de la familia Polycomb y factores epigenéticos, pero su activación conduce a la expresión de p16<sup>INK4a</sup> y ARF, proteínas conocidas por su papel en la prevención de la degradación de p53 (ver figura 3). (7)

Todavía no está clara la relación entre el envejecimiento y la desrepresión del locus INK4-ARF, pero hay evidencia de que sus productos, p16<sup>INK4a</sup> y p19ARF, aumentan en los tejidos de roedores y humanos con el paso de los años y que el factor de transcripción C-ets-1 (ETS1) se correlaciona con este aumento. (7)

Una vez instaurado este estado irreversible de no división del ciclo celular, las células comienzan a experimentar cambios en la expresión génica con el fin de instaurar el fenotipo SASP. (7)

#### **4.4 DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL Y ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS**

Entre los factores conocidos por ser capaces de inducir la senescencia que se describieron en la introducción del trabajo se encuentran la alteración de la función mitocondrial y el acortamiento de los telómeros.

##### **4.4.1 DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL**

Las mitocondrias son orgánulos celulares capaces de producir especies reactivas del oxígeno (*Reactive Oxygen Species, ROS*). Se ha propuesto que el acúmulo de estas moléculas debido a las alteraciones en la función mitocondrial normal podría ser un desencadenante de la senescencia dada la capacidad del exceso de estrés oxidativo para alterar la señalización celular normal. Asimismo, su acumulación se acompaña de defectos en la cadena de transporte de electrones y su consecuente desequilibrio energético celular. (1) Esto es debido al aumento de la actividad de AMPK (*AMP activated protein kinase*) que media la activación de p53, disminución del NAD<sup>+</sup> mitocondrial y acumulación de calcio en su interior. (7) Al mismo tiempo, la alteración

de estas organelas también se acompaña de a) un aumento de la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia (SA- $\beta$ -gal), enzima lisosomal considerada como un marcador de senescencia replicativa, b) acúmulo de lipofuscina en el citoplasma celular y c) una disminución en la síntesis de ácidos grasos. (2) Por otro lado, debido a la disfunción mitocondrial, el SASP que expresan las células senescentes carece de factores dependientes de IL-1. (7) Por último, la disfunción mitocondrial parece ser capaz de favorecer y acelerar el acortamiento de los telómeros. (2) Por lo tanto, son numerosos los factores que implican a la disfunción mitocondrial en el inicio y agravamiento de la senescencia celular

#### **4.4.2 ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS**

Los cromosomas presentan en sus extremos los telómeros, constituidos por una secuencia de seis nucleótidos (TTAGGG) repetida hasta 2000 veces que ocupa 15 kb de ADN. En cada ciclo celular, la ADN polimerasa no es capaz de replicar de forma completa esta secuencia debido a la falta de telomerasa, por lo que se va perdiendo progresivamente a lo largo de las divisiones a un ritmo de 50-150 pb/ciclo. La telomerasa es una transcriptasa inversa codificada por el gen *hTERC* que hace de molde para la transcripción de la secuencia telomérica TTAGGG. En el organismo pocas células expresan este enzima. Entre ellas se encuentran las células madre embriológicas, ciertas células madre adultas, linfocitos T activados y la mayor parte de células tumorales. (12)

Los telómeros funcionales evitan que los mecanismos de reparación del ADN reconozcan estas secuencias terminales como roturas de la doble hebra de ADN, es decir, como ADN dañado que debe ser reparado, manteniendo la integridad de los cromosomas sin perder secuencias codificantes. (1) A medida que se suceden las divisiones los telómeros alcanzan una longitud crítica y pierden su función. De esta forma se activa la respuesta de reparación del ADN (DDR), que detiene el ciclo celular a través de p53 y evita que se repare ese cromosoma y se llegue a una inestabilidad que puede dar lugar al desarrollo de tumores. Además, la señalización de la DDR establece y mantiene el fenotipo SASP. (2) Por lo tanto, se puede considerar que los telómeros son los grandes determinantes de la vida celular, dado que registran el máximo número de divisiones celulares que pueden tener lugar y establecen el momento de entrada en la senescencia celular. (12) Sin embargo, no en todas las enfermedades en cuya patogenia parece intervenir la senescencia celular se ha encontrado una relación entre este proceso y la longitud de los telómeros, como se describirá en apartados posteriores.

#### **4.5 ALTERACIÓN DE LA PROTEOSTASIS**

La proteostasis es una propiedad de las células eucariotas consistente en la homeostasis proteica del medio celular que incluye la correcta síntesis, plegamiento y degradación de las proteínas. Así, la degradación de las proteínas anómalas depende fundamentalmente de la regulación adecuada del proteasoma y de los sistemas de degradación lisosómicos y autofágicos. (2)

En diversos estudios llevados a cabo sobre células senescentes se ha puesto de manifiesto una alteración de la proteostasis celular debido a alteraciones en la función de los lisosomas, la autofagia, el nucléolo, y la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR). (2)

Como se ha comentado en el punto 4.1 *Cambios morfológicos*, entre las alteraciones que presentan las células senescentes se encuentra el aumento del tamaño del retículo endoplásmico (RE) debido al aumento de la actividad de la UPR, que está asociada al estrés de este orgánulo. (2) (3)

## **5. SENESCENCIA CELULAR, ENVEJECIMIENTO CEREBRAL Y ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

La edad es un evento universal caracterizado por el acúmulo de una serie de cambios biológicos que conducen irremediablemente hacia la decadencia funcional del organismo. De esta manera, el envejecimiento supone el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. (3) (10)

Cada vez hay más evidencia del papel patogénico de la senescencia celular en numerosas enfermedades relacionadas con el envejecimiento. El deterioro del sistema inmune y la homeostasis celular convergen en una acumulación inevitable de células senescentes en los tejidos, lo que conlleva un aumento de la actividad del SASP. Por ello, se ha propuesto que la senescencia pudiera ser capaz, por sí sola, de provocar el envejecimiento. Diversos estudios han demostrado la presencia de células senescentes no solo en muestras de tejidos provenientes de personas de edad avanzada, sino también de personas afectadas por síndromes de envejecimiento prematuro, como el síndrome de Werner, el síndrome de Cockayne y la enfermedad ataxia-telangiectasia. (7)

Conforme avanza la edad todos los tejidos experimentan cierto grado de inflamación crónica que en el cerebro se conoce bajo el término *neuro-inflammaging*, que además de ser estéril puesto que ocurre en ausencia de noxas, es un factor causante y contribuyente al desarrollo de la mayor parte de las patologías neurodegenerativas. (10) A diferencia de la inflamación que tiene lugar ante un contexto agudo, diseñada para autolimitarse tras un corto periodo de tiempo, la inflamación crónica es de intensidad más débil, pero tiende a perpetuarse. (2) En el cerebro, este estado inflamatorio se acompaña de una serie de cambios microscópicos que determinan alteraciones visibles a simple vista en estadios avanzados de ciertas enfermedades, como la disminución de determinadas poblaciones neuronales, de la arborización dendrítica y axonal, del número total de sinapsis y de la pérdida del volumen cortical. (10) Esta degeneración progresiva del correcto funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) deriva en el deterioro de las funciones motoras y cognitivas, entre otras. (3)

La neuroinflamación se produce, en parte, por la activación de la microglía, responsable del aumento de la liberación de citoquinas proinflamatorias, algunas ya mencionadas anteriormente como IL-1 $\alpha$  o IL-6, y otras como la IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22, IL-23, IFN- $\gamma$  y TNF $\alpha$ . (2) (3) (10)

A pesar de que las neuronas son células post-mitóticas y a priori no se puede considerar que experimenten el fenómeno de senescencia celular, se ha demostrado que estas células desarrollan un fenotipo similar al de la senescencia. De hecho, un gran porcentaje de las neuronas procedentes de ratones de edad avanzada acumulan una serie de cambios propios de este fenómeno: (10)

- Elevación del número de roturas en la doble hélice de ADN.
- Aumento de la actividad de la enzima SA- $\beta$ -Gal y de la secreción de citoquinas proinflamatorias, como IL-6, y de ROS.
- Alto nivel de heterocromatización.
- Gran activación de la vía de señalización p38MAPK.

Al mismo tiempo, este fenotipo similar a la senescencia se agrava por un trasfondo genético que da lugar a la disfunción de los telómeros. (10)

Las neuronas humanas acumulan en su citoplasma gránulos de lipofusina conforme avanza la edad del individuo. (2) Además, las neuronas procedentes de los núcleos implicados en el ciclo sueño-vigilia son propensas a acumular lipofusina a lo largo del envejecimiento, perdiendo la densidad de su arborización dendrítica y disminuyendo la producción de neurotransmisores, lo que desencadena su compromiso funcional. (10) Estos datos apoyan la hipótesis de que estas células también son capaces de adquirir el fenotipo senescente.

Aunque hay evidencias de la relación entre la senescencia y la neurodegeneración, éste es un campo emergente y todavía es necesario que se realicen estudios que amplíen y completen el conocimiento de las características de este hecho. Varios laboratorios han demostrado la asociación entre la senescencia de los astrocitos y otras células de la glía con el proceso de neurodegeneración que acompaña al envejecimiento de los individuos, dando lugar en algunas ocasiones al deterioro cognitivo característico de patologías como la EA o la EP. Aunque hay controversia en cuanto a si la senescencia es causa o consecuencia de estas enfermedades, algunas hipótesis proponen que hay una retroalimentación positiva entre la senescencia y distintos hitos neuropatológicos de estas enfermedades (ver figura 1). (2) (10)

## **5.1 LA SENESCENCIA CELULAR EN LAS CÉLULAS GLIALES**

En condiciones normales, las células gliales del SNC (astrocitos, oligodendrocitos y células de microglía) proporcionan apoyo estructural, metabólico y defensivo para las neuronas, desempeñando un papel esencial en el mantenimiento de las condiciones óptimas que aseguren su supervivencia. (13) Sin embargo, estas células son susceptibles de experimentar el fenómeno de la senescencia celular. La presencia de células senescentes en el cerebro de mamíferos sugiere que la producción crónica de los factores proinflamatorios que conforman el SASP contribuye de manera importante a la neurodegeneración. Como se indicó anteriormente, la secreción de este tipo de factores tiene efectos perjudiciales sobre las neuronas vecinas gracias a la actividad paracrina de las células senescentes, alterando las sinapsis neuronales, las interacciones entre las neuronas y la glía y la homeostasis iónica y metabólica neuronal. (10)

Mientras que se ha observado un aumento en el número de células senescentes presentes en los tejidos conforme lo hace la edad, en el cerebro este aumento se ha asociado a una pérdida del 0,4 % del volumen cerebral cada año. Esto puede ser debido a que tanto las células afectadas por la senescencia como por la apoptosis pueden ser eliminadas por el sistema inmune. Asimismo, conforme el sistema de fagocitosis se satura, la acumulación de células senescentes podría explicar el compromiso de la función normal del tejido cerebral. Este acúmulo tiene lugar de forma preferente en ciertas regiones, como la sustancia negra. (3)

A continuación, se comentarán las principales alteraciones propias de la senescencia celular que experimenta cada tipo celular de la glía.

### 5.1.1 ASTROCITOS

Los astrocitos son las células gliales más abundantes del sistema nervioso central, constituyendo alrededor del 25 % del volumen cerebral. (13) Su función está relacionada no solo con el soporte del entramado glial, sino con la modulación de la función sináptica y su plasticidad dada su importancia en el mantenimiento de la homeostasis a través del balance osmótico y de la barrera hematoencefálica. Además, son fundamentales en el apoyo metabólico para la correcta función de las neuronas, el reciclaje de los neurotransmisores, la defensa contra las infecciones, traumas y neurodegeneración, y en la sinapsis tripartita, que tiene lugar entre las neuronas pre- y post-sinápticas y el mismo astrocito. (6) (10) (11)

Se ha observado que ante estímulos capaces de alterar el equilibrio del SNC los astrocitos se activan y secretan moléculas como quemoquinas, citoquinas y proteasas, características de la senescencia. Asimismo, las proteínas que se asocian con la activación astrocítica, como la proteína ácida fibrilar glial (*glial fibrillary acidic protein*, GFAP) y la vimentina, aumentan conforme lo hace la edad. (11)

Cohen et al. (2019) fueron los primeros en estudiar la *astrosenescencia*. Previamente, Ponten y Macintyre (1968) observaron que en las células gliales también podía emplearse el límite de Hayflick, dado que a partir de un número de replicaciones estas dejaban de dividirse, experimentando la senescencia replicativa. Posteriormente se determinó que la limitación de la replicación celular, el estrés oxidativo, la inhibición del proteasoma y la infección por el VIH, entre otros, eran factores determinantes en la astrosenescencia, que podría ser fundamental en el desarrollo de ciertas patologías neurodegenerativas. (11)

En muestras de astrocitos que han experimentado la senescencia replicativa se han observado marcadores de la senescencia celular, tales como el cese de su división y aumento de la expresión de p53, p21 y SA- $\beta$ -gal. Asimismo, estas células también son capaces de experimentar la senescencia inducida por estrés oxidativo, ya que en muestras de astrocitos procedentes de roedores y humanos sometidas a la adición de especies reactivas de oxígeno, como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o a la exposición a irradiación ionizante aparecen cambios morfológicos y moleculares característicos de las células senescentes, como la parada del ciclo celular, morfología alargada, incremento de la



actividad de SA- $\beta$ -gal y de la expresión p53, p21 y p16<sup>INK4a</sup>, daño en el ADN, disminución de la actividad mitocondrial y desarrollo del fenotipo SASP. (10) Con respecto a este último, la depleción de glutatión en los cultivos de astrocitos humanos activa las vías de señalización asociadas con el fenotipo SASP, como la p38MAPK y NF- $\kappa$ B, desencadenando la secreción de IL-6. (6) (11) (13)

Algunos de estos cambios también se han observado en muestras de astrocitos procedentes de cerebros de pacientes de edad avanzada, como el aumento de la expresión de p16<sup>INK4a</sup> y de la metaloproteinasa MMP-3. (6)

Con respecto a la senescencia inducida por estrés oxidativo, éste provocaba cambios transcripcionales importantes en los astrocitos humanos, tales como cambios en la expresión de genes asociados con el desarrollo, disminución de la diferenciación del sistema nervioso y paradas del ciclo celular. Por el contrario, la expresión de genes relacionados con la inflamación, la remodelación extracelular y la resistencia a la apoptosis aumenta. Asimismo, en los astrocitos senescentes la expresión de genes asociados con la activación astrocítica se encuentra disminuida. (3) (6) (10) (13)

Todos estos hallazgos sugieren que la pérdida de neuroprotección que acontece durante el envejecimiento cerebral coincide con un aumento de la senescencia astrocítica. (10) (11) Por último, en el desarrollo de la senescencia celular de los astrocitos se han visto implicados varios factores ambientales, como el amoníaco, el paraquat y la dioxina TCDD, proporcionando un posible vínculo entre la exposición ambiental a sustancias tóxicas, la senescencia celular y el desarrollo de patologías neurodegenerativas. (3) (13)

### **5.1.2 CÉLULAS DE MICROGLÍA**

Las células de microglía son la representación del sistema inmune innato en el SNC, ya que suministran vigilancia inmunitaria gracias a su capacidad fagocítica. Su respuesta se basa en la secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , prostaglandinas y factores de crecimiento, la producción de ROS y la estimulación de la fagocitosis. (10) (13) Como se ha descrito en apartados anteriores, todos estos mecanismos se encuentran sobreactivados en las células senescentes.

En condiciones normales, estas células se encuentran en un estado quiescente caracterizado morfológicamente por un soma pequeño y procesos microgliales ampliamente ramificados. En respuesta a la infección o daño del SNC, estas células se activan y experimentan cambios en su morfología, como el acortamiento de sus ramificaciones y el agrandamiento del soma, así como el aumento en la regulación de la activación de los antígenos de la superficie celular y de la secreción de mediadores proinflamatorios y neurotóxicos. (10) (13)

Estudios sobre senescencia celular en cultivos de células de microglía procedentes de modelos murinos de laboratorio han demostrado que estas células experimentan senescencia replicativa debido al acortamiento de los telómeros. Posteriormente, este proceso se describió para las células microgliales procedentes de pacientes con EA. Por

otro lado, la administración repetida de lipopolisacáridos a un cultivo de células de microglía es capaz de inducir la expresión del SASP junto con la parada del ciclo celular, el aumento de la actividad de SA- $\beta$ -gal y la formación de SAHF. (10) Asimismo, la activación crónica de la microglía está implicada en la muerte neuronal asociada con las enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la EA y la EP. Un estudio comparativo entre cerebros humanos de pacientes jóvenes y de pacientes de avanzada edad objetivó un cambio en la morfología de la microglía conforme avanzaba la edad, pasando de tener una morfología ramificada a otra distrófica e hipertrófica que se ha asociado con cambios funcionales. Además, este fenotipo distrófico es más abundante en las patologías neurodegenerativas y podría preceder al inicio de la propia neurodegeneración. (6) (14) Estos datos apoyan la teoría que señala a la edad como factor influyente en la disminución de la habilidad de estas células para responder eficientemente ante el daño del SNC.

### **5.1.3 OLIGODENDROCITOS**

Los oligodendrocitos son las células encargadas de la mielinización del SNC y son altamente vulnerables al estrés oxidativo. La presencia de daño en el ADN y el aumento de la expresión de SA- $\beta$ -Gal sugiere que los oligodendrocitos pueden experimentar una senescencia celular asociada con este daño en individuos de edad avanzada. Además, estudios de neuroimagen y los datos neuropatológicos observados demuestran que conforme avanza la edad aparecen alteraciones en la mielina de la sustancia blanca, lo que podría ser, en parte, debido al desarrollo de la senescencia oligodendrótica. Esta debacle funcional reduciría la habilidad de estas células para la mielinización de los axones y, por tanto, disminuiría la velocidad de conducción del impulso nervioso a través de ellos, repercutiendo gravemente en la señalización interneuronal. (3)

### **5.1.4 OTROS TIPOS CELULARES**

Las células endoteliales y las células madre neuronales también son potencialmente susceptibles de experimentar la senescencia. (10)

La hipoperfusión cerebral y la alteración de la barrera hemato-encefálica están implicadas en el desarrollo de las patologías neurodegenerativas dado que su integridad es fundamental para el correcto funcionamiento del SNC. (3) (10) Las células endoteliales y los pericitos que conforman la estructura microvascular cerebral son susceptibles de experimentar senescencia, alterando la barrera hemato-encefálica y, por ende, aumentando la presencia de factores inflamatorios periféricos y perturbando la homeostasis del medio cerebral, lo que contribuye a la pérdida neuronal y al consecuente deterioro cognitivo. Esta alteración está ligada a la regulación decreciente de *SIRT1* en las células endoteliales, un gen que codifica para la proteína Sirt1 (Sirtuína 1), que está implicada en la biogénesis mitocondrial. (3) (15)

Por otro lado, conforme aumenta la edad acontecen cambios en el plexo coroideo, encargado de producir líquido cefalorraquídeo, factores de crecimiento, como el epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento para fibroblastos 2 (FGF2). Este plexo

supone una ruta para la vigilancia inmunológica del SNC y su inflamación. Además, en edades avanzadas se incrementa la expresión de interferón en el plexo coroideo, lo que podría tener repercusiones sobre la función cognitiva y la neurogénesis que acontece en la ZSV (Zona Subventricular) y la ZSG (Zona Subgranular) del giro dentado hipocampal. Existe evidencia suficiente que confirma la neurogénesis de astrocitos, oligodendrocitos y neuronas a partir de estas dos zonas cerebrales del hipocampo. La edad reduce de forma significativa la neurogénesis en el hipocampo de individuos adultos. Esta menor neurogénesis está relacionada con la parada del ciclo celular de las células madre neurales ante diversos estresores, como la presencia de oligómeros de  $\beta$ -amiloide, lo que produce una reducción de las capacidades regenerativas del SNC y la aparición o agravamiento de patologías neurodegenerativas. (3)

## **6. SENESCENCIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)**

La patología neurodegenerativa con mayor porcentaje de personas afectadas en el mundo es la EA. Dos terceras partes de todos los casos de demencia son de tipo EA. Además, la demencia por cuerpos de Lewy, la vascular y la frontotemporal son agrupadas bajo el título de demencias relacionadas con la EA (*Alzheimer Disease Related Dementias, ADRDs*). (7) Como en el caso de la mayor parte de las enfermedades neurodegenerativas, los tratamientos disponibles son escasos, de carácter sintomático y con una eficacia muy limitada, por lo que la repercusión económica y social que genera es muy importante.

Clínicamente, la EA se manifiesta como un deterioro de diversos dominios cognitivos, entre los que destaca la pérdida progresiva de la memoria episódica. Por otro lado, los estudios de neuroimagen han permitido revelar el patrón neurodegenerativo que tiene lugar en el cerebro de estos pacientes. En este sentido, uno de los hitos más relevantes es la atrofia cerebral, que comienza en la zona temporal de los lóbulos temporales, extendiéndose posteriormente hacia las partes lateral y medial de estos mismos lóbulos y de los parietales para, finalmente, afectar a la parte lateral de la corteza frontal. (16)

A nivel histopatológico, la EA se caracteriza por la presencia de placas neuríticas extracelulares de péptidos  $A\beta$ , ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos por filamentos de proteína tau hiperfosforilada (*Neurofibrillary Tangles, NFT*) y la acumulación de  $A\beta$  en las paredes de los vasos sanguíneos de la corteza cerebral y las leptomeninges. Estos procesos moleculares dan lugar a numerosas alteraciones en la morfología y función de las redes neuronales y de sus sinapsis. (16)

Además de la edad, se han identificado otros factores de riesgo que pueden predisponer al individuo a desarrollar esta enfermedad. Entre los más relevantes se encuentran las mutaciones que tienen lugar en los genes que codifican para la proteína precursora de amiloide (*Amyloid Precursor Protein, APP*), la presenilina 1 (PS1) y presenilina 2 (PS2). Estas mutaciones están relacionadas con la aparición de casos familiares de EA, que tienen lugar a una edad más temprana que en la EA esporádica. Por otro lado, el principal factor de riesgo genético descrito para los casos de EA esporádica es portar el alelo E4 de la apolipoproteína E (ApoE). Los pacientes

portadores de uno de estos alelos tienen entre 2 y 3 veces más riesgo de padecer la enfermedad que aquellos que carecen de él, mientras que el riesgo en aquellos que portan los dos alelos aumenta hasta 16 veces. (16) (17)

En la EA, uno de los mecanismos celulares que subyacen a la aparición y agravamiento de la enfermedad es la acumulación de proteínas mal plegadas en el cerebro, por lo que se ha propuesto que la senescencia celular podría desempeñar un papel importante en este proceso. (2) (6)

## **6.1 MECANISMOS DE LA SENESCENCIA CELULAR IMPLICADOS EN LA EA**

Como se ha citado anteriormente, la EA se caracteriza por el acúmulo de proteínas mal plegadas en el cerebro de los pacientes. Sin embargo, también se han observado estas agrupaciones en cerebros de personas de 50 a 100 años no diagnosticados de la enfermedad, por lo que hay evidencia de que estos cambios no solo acontecen en aquellos individuos diagnosticados de EA, sino que también tienen lugar en los cerebros de personas sin deterioro cognitivo. Por lo tanto, esta agregación de proteínas anómalas podría ser una característica común del cerebro de pacientes de edad avanzada o funcionar como un biomarcador de estadios preclínicos antes del diagnóstico clínico de EA. (7)

Por otro lado, en los últimos años numerosos estudios han señalado la presencia de ciertos marcadores patológicos años antes de que la enfermedad se exprese clínicamente y que influyen sobre la formación de las placas de A $\beta$ , de los ovillos neurofibrilares, de la muerte neuronal y la progresión acelerada del deterioro cognitivo. Entre ellos destacan los factores desencadenantes de la senescencia celular, como el estrés oxidativo, el daño en la molécula de ADN, la neuroinflamación y la alteración de la proteostasis (ver figura 1). (2)

Como se ha comentado a lo largo del apartado 5.1 *La senescencia celular en las células gliales*, se ha demostrado que diferentes células del SNC presentan alteraciones propias de la senescencia, como el aumento de la expresión de SA- $\beta$ -gal y p53, la liberación de componentes proinflamatorios propios del SASP, daño en el ADN y el acortamiento de los telómeros. En este proceso de liberación de citoquinas proinflamatorias parece ser clave la activación de la microglía. Además, los niveles séricos de SA- $\beta$ -gal y p53 están incrementados en los pacientes con EA y modelos de roedores de esta enfermedad con respecto a personas o animales sanos. Asimismo, cultivos de neuronas expuestas a A $\beta$  presentaban un aumento de la expresión de varios genes asociados con la senescencia. Estudios *in vivo* en modelos murinos de EA que presentan una acumulación progresiva de A $\beta$ -amiloide mostraron que a los 7 meses de edad estos animales tienen una sobreexpresión de genes relacionados con la senescencia en el hipocampo. Además, la adición de oligómeros de A $\beta$ -42 a una muestra de células madre neurales murinas aumenta el número de células positivas para el marcador SA- $\beta$ -Gal. (2) Por el contrario, los monocitos y linfocitos de los pacientes con EA presentan una reducción significativa del marcaje para SA- $\beta$ -Gal en comparación con los controles, lo que se atribuye a la regulación positiva del microARN miR-128, cuyo aumento en su expresión se ha relacionado con varios

procesos carcinogénicos, proliferativos, de diferenciación y de apoptosis celular. (3) (7) (18)

Además, hay evidencia de que durante la EA se produce un aumento de la expresión de las proteínas reguladoras del ciclo celular y otros marcadores de senescencia en varios tipos de células cerebrales. En pacientes con EA se ha descrito que: (7)

- La expresión de CDK4 y su inhibidor p16<sup>INK4a</sup> está aumentada en las neuronas piramidales del hipocampo.
- Los astrocitos senescentes, que exhiben expresión de p16<sup>INK4a</sup> y actividad SA-β-Gal, se acumulan en el cerebro de las personas con EA. Los datos *in vitro* de astrocitos humanos sugieren que la deposición de Aβ puede ser un desencadenante de la senescencia y este mecanismo podría explicar la senescencia astrocítica.
- Los oligómeros de Aβ también son capaces de inducir la senescencia en cultivos de microglia obtenidos de roedores de edad avanzada o de cerebros humanos con EA.

La formación de los ovillos neurofibrilares, característicos de la EA, desencadenaba cambios metabólicos, alteraciones en la expresión génica e inducción de daño en la molécula de ADN, todos ellos eventos relacionados con la senescencia. En un modelo murino de demencia frontotemporal (FTD), los ratones transgénicos rTg(tau<sup>P301L</sup>)4510 que expresan una variante humana mutante de tau llamada P301L (isoforma 4R0N), la expresión del locus INK4-ARF, que codifica la proteína p16<sup>INK4a</sup> como se describió en el apartado 4.3 *Línea temporal de la senescencia celular*, estaba aumentada en el prosencéfalo de estos ratones y desarrollaban una enfermedad agresiva por acumulación de tau en esta zona. Este evento precedía al deterioro cognitivo que presentan estos animales a los 4 meses de edad. Para explicar este fenómeno se ha propuesto que la agregación de la proteína tau, con la consecuente formación de ovillos neurofibrilares, podría poner en marcha un mecanismo celular homeostático consistente en el aumento de la expresión de CDKN1 y CDKN2 con el fin de forzar una entrada en un estado similar a la senescencia y mitigar el estrés celular asociado a la misma proteinopatía, así como la muerte por apoptosis. No obstante, la acumulación y expresión progresiva de ovillos neurofibrilares y de CDKN1 y CDKN2 termina desencadenando el SASP. Por tanto, el acúmulo de proteína tau es un factor inductor de la senescencia neuronal y de neuroinflamación. (7)

En células progenitoras de oligodendrocitos (*Oligodendrocyte Progenitor Cells, OPC*) la acumulación de Aβ induce la senescencia de estas células en ratones y humanos. Estas células muestran características propias de la senescencia, como la expresión de CDKN1 y CDKN2, y se acumulaban cerca de las placas de Aβ de la corteza parietal inferior de pacientes afectados por EA. De manera consistente con estos resultados uno de los modelos murinos de EA más utilizados, los ratones transgénicos APP/PS1 que coexpresan una variante mutante quimérica ratón-humano de la proteína APP de la que deriva el Aβ y una variante mutante humana de PS1, presentan características similares a una EA temprana, como acumulación de Aβ en la corteza entorrinal e hipocampal, donde a su vez se acumula OPC con expresión marcada de SA- β-Gal. (7)

Existe evidencia que sugiere que la re-entrada aberrante en el ciclo celular de las neuronas post-mitóticas podría jugar un papel crítico en la patogénesis de la EA, teoría que se sustenta en la re-expresión de numerosas proteínas reguladoras del ciclo celular en las neuronas vulnerables: (3)

- El inhibidor de quinasa dependiente de ciclina o p21<sup>CIP1</sup> parece ser un mediador esencial en la alteración del ciclo celular en la EA. Sin embargo, los datos aún no permiten postular teorías concluyentes, dado que otros estudios no han encontrado una diferencia significativa entre los niveles de p21<sup>CIP1</sup> de los pacientes afectados por la EA y los individuos sanos.
- En cuanto a p16<sup>INK4a</sup>, estudios realizados sobre las neuronas de pacientes con EA y modelos murinos de esta enfermedad han señalado un aumento de la expresión de esta proteína.
- Se ha demostrado que tanto en los linfocitos de los pacientes con EA como en las neuronas de modelos murinos de esta enfermedad hay un incremento en los niveles de p53, factor clave en la senescencia celular.

Hace ya más de dos décadas que se puso de manifiesto la acumulación anormal de p16<sup>INK4a</sup> y CDK4 en las neuronas de pacientes con EA y se desarrolló la teoría de la re-entrada aberrante en el ciclo celular neuronal. Sin embargo, cada vez hay más evidencia que sugiere que estas células se convierten en senescentes. (7)

Por otro lado, tanto en el cerebro y linfocitos de pacientes con EA como en la corteza de modelos murinos de esta enfermedad se produce un incremento en los niveles de p38MAPK. Dado que estas proteínas-quinasas son reguladoras importantes del SASP, es lógico encontrar un aumento de la expresión en el tejido cerebral, LCR y suero de pacientes con EA de un gran número de componentes de este fenotipo capaces de influir en la neurodegeneración, sobre todo IL-6, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  y TNF- $\alpha$ . Asimismo, las metaloproteinasas MMP-1, MMP-3 y MMP-10 también se encuentran elevadas en la EA. El hecho de que estos factores que conforman el SASP jueguen un papel importante tanto en el inicio de la senescencia celular como en la EA sugiere que debe existir una relación entre el fenómeno de *neuro-inflammation*, la senescencia y el desarrollo de patologías neurodegenerativas como la EA. (2) (3)

### 6.1.1 NEUROINFLAMACIÓN

La neuroinflamación que acontece con los procesos anteriormente descritos también agrava la progresión de la EA dado que aumenta la expresión de APP y de A $\beta$ . Las citoquinas proinflamatorias inducen la formación de oligómeros de A $\beta$ , ROS y la fosforilación de la proteína tau. Tanto la proteína APP como los péptidos A $\beta$  son capaces de activar a las células gliales, contribuyendo a la producción de nuevas sustancias proinflamatorias en los cerebros de los pacientes con la EA, como IL-1 e IFN- $\gamma$ . Estas alteraciones moleculares convergen en la saturación de la microglía, que internaliza menos cantidad de A $\beta$  y disminuye su capacidad de procesamiento, lo que favorece su acumulación. De esta forma, podemos concluir que existe una retroalimentación positiva entre la liberación de citoquinas proinflamatorias, la expresión de APP,  $\beta$ -amiloide, la fosforilación de la proteína tau y la neurodegeneración (ver figura 1). (2)

### 6.1.2 CAMBIOS EPIGENÉTICOS

En la patogénesis de la EA también están involucrados cambios epigenéticos. Como se ha descrito anteriormente, los cambios en los patrones de metilación del ADN y las histonas alteran la conformación normal de la heterocromatina. De esta manera, se han observado diferencias en la metilación normal de genes asociados con la EA en las regiones cerebrales afectadas por la enfermedad. En la región hipocampal y en linfocitos de pacientes con EA se produce un aumento de los niveles de histona fosforilada  $\gamma$ H2AX, indicador de la activación de la DDR, ya que esta histona aparece fosforilada ante roturas de la doble hebra de ADN. Estas modificaciones en las histonas están relacionadas con la reducción de la transcripción de genes implicados en la fisiología normal de las neuronas y con el aumento de la transcripción de genes que normalmente se encuentran silenciados. Además, la histona H3 fosforilada presenta una localización alterada en el citoplasma, mientras que los niveles de la histona H4 acetilada están disminuidos en pacientes con EA. (2) (3) (19)

Asimismo, se ha observado que los cambios en la metilación del ADN que tienen lugar en los pacientes con EA afectan a ciertos loci de genes implicados en la formación de las placas de A $\beta$ , siendo de especial interés los acontecidos en diversas regiones de los promotores del gen *APP*. (2) (3) (19)

### 6.1.3 DISFUNCIÓN DE LA AUTOFAGIA, LISOSOMAS Y MITOCONDRIAS

Numerosos estudios sugieren que la disfunción de las vías moleculares implicadas en la autofagia y el correcto funcionamiento de los lisosomas contribuyen a la patogenia y progresión de las enfermedades neurodegenerativas, especialmente de la EA, dado que la mayor parte de los genes implicados en ésta están relacionados con la disfunción de estas vías. (3)

La disfunción mitocondrial que acontece con la edad y, fundamentalmente, la producción de ROS, se han relacionado con la EA debido a su daño potencial sobre el ADN neuronal. Esto da lugar al desarrollo de la conocida senescencia prematura inducida por estrés oxidativo o SIPS. Por otro lado, la producción de ATP, molécula necesaria para la correcta actividad neural y de otras células del organismo, se ve comprometida, por lo que esta depleción de energía genera cambios en el metabolismo celular normal, produciendo un aumento de la actividad de la enzima lisosómica SA- $\beta$ -Gal, acumulación de lipofusina citoplasmática y disminución de la síntesis de ácidos grasos, como ya se describió anteriormente. (2) (3)

La disfunción mitocondrial también interviene en la alteración de la entrada y progresión del ciclo celular y en los cambios en la morfología de las células. Esto puede desencadenar una senescencia replicativa prematura y un acortamiento acelerado de los telómeros. Estas alteraciones también pueden producir daños en la morfología y función de las mitocondrias, por lo que el efecto es bidireccional. (2) (3)

Así, el aumento de la demanda energética celular y del estrés oxidativo al que se ven sometidas las células deriva en la acumulación de daño en las moléculas de ADN, lo

que pone en marcha el sistema DDR, cuya capacidad de reparación disminuye progresivamente con la edad. Estos hechos están presentes desde los estadios iniciales de la EA y preceden a los principales hitos histopatológicos, como las placas de  $\beta$ -amiloides y los ovillos neurofibrilares. (2) (3) Por tanto, las mitocondrias y los lisosomas ejercen un papel crítico en la progresión de la senescencia celular, aunque, de nuevo, son necesarios más estudios para elucidar su contribución exacta a la etiopatogenia y progresión de la EA.

#### **6.1.4 ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS**

Como se ha descrito en el apartado 4.4 *Disfunción mitocondrial y acortamiento de telómeros*, este último proceso se ha postulado como un mecanismo fundamental en el envejecimiento y el desarrollo de patologías relacionadas con la edad y es, además, un marcador de la senescencia. Se ha propuesto que podría existir una asociación entre el acortamiento de los telómeros y el desarrollo de la EA, dado que en los monocitos de pacientes con esta enfermedad se han hallado telómeros de pequeño tamaño. Además, otros estudios han mostrado un mayor grado de acortamiento en los telómeros de personas afectadas por la EA que en aquellas con deterioro cognitivo leve (*mild cognitive impairment*) y de éstas con respecto a personas sanas. (2) Sin embargo, un gran estudio longitudinal basado en datos comunitarios no encontró diferencias significativas entre la longitud de los telómeros de pacientes diagnosticados de EA y pacientes cognitivamente sanos, por lo que son necesarios más estudios que arrojen luz sobre una posible conexión entre este marcador y la EA. (3)

#### **6.1.5 ALTERACIÓN DE LA PROTEOSTASIS**

En el punto 4.5 *Alteración de la proteostasis* se describía el papel de esta función en la senescencia celular. Para que este mecanismo celular funcione de forma correcta es necesario que se encuentren íntegros tanto el RE como el ensamblaje de los ribosomas en el nucléolo, las vías de degradación lisosómicas y el complejo ubiquitín-proteasoma. Puesto que todos ellos reducen la producción de citoquinas proinflamatorias y evitan el acúmulo de proteínas mal plegadas, su disfunción podría ser un claro marcador de las enfermedades neurodegenerativas como la EA, la EP, la ELA (esclerosis lateral amiotrófica) o la enfermedad de Huntington, caracterizadas todas ellas por el acúmulo de estas proteínas. (2)

### **6.2 CÉLULAS GLIALES, SENESCENCIA CELULAR Y EA**

Como se ha descrito en este trabajo, las neuronas no son las únicas células del SNC afectadas por la senescencia celular, sino que las células gliales también son susceptibles a este fenómeno y están implicadas en la patogenia de la EA. (3)

#### **6.2.1 ASTROCITOS**

Los astrocitos son una pieza fundamental en el inicio y progresión de la EA. Cuando se acumulan placas de A $\beta$  en las cercanías de los astrocitos humanos se inicia la senescencia celular en ellos, que se acompaña de la producción de moléculas



proinflamatorias propias del SASP, como IL-6 y MMP-1, mediante la activación de la vía p38MAPK. Además, el marcaje positivo para la enzima SA- $\beta$ -Gal aparece antes que la acumulación de placas de A $\beta$ . La senescencia astrocítica no solo tiene un impacto sobre los astrocitos situados en su cercanía, sino también sobre las neuronas vecinas y las células neurales progenitoras. (3) (11)

Por otro lado, estudios post-mortem han demostrado que los astrocitos obtenidos de cerebros de pacientes con EA presentan niveles elevados de p16<sup>INK4a</sup> y p21. (20)

Algunos estudios han puesto de manifiesto la implicación de los astrocitos en la degradación y aclaramiento de A $\beta$ , dado que la expresión de los receptores astrocíticos implicados en este proceso, LRP1 (*low-density lipoprotein receptor-related protein 1*) y SR-B1 (*scavenger receptor B1*) está disminuida. (11)

Asimismo, los niveles de la histona fosforilada  $\gamma$ H2AX en muestras de astrocitos provenientes del hipocampo de pacientes con EA están aumentados. (3) (11)

## 6.2.2 MICROGLÍA

Se desconocen los mecanismos exactos responsables de la relación entre estas células y la EA, pero cultivos de células de la microglía de pacientes con EA presentan senescencia replicativa debido al acortamiento de los telómeros. Además, las características neuropatológicas de la EA se han asociado con las células microgliales distróficas, que exhiben cambios morfológicos propios de la senescencia. Un estudio reciente demostró que cuando se trataban muestras de células de microglía provenientes de modelos murinos envejecidos con oligómeros de A $\beta$ , éstas adquirían un fenotipo propio de la senescencia, con niveles elevados de SA- $\beta$ -gal, IL-1 $\beta$ , TNF- $\beta$  y MMP-2. (3)

Para concluir, un estudio reciente ha sugerido que la eliminación de las células gliales senescentes, positivas para p16<sup>INK4a</sup>, mediante agentes senolíticos o ablación genética previene o inhibe la formación de ovillos neurofibrilares y el inicio de la neurodegeneración en modelos murinos de EA y enfermedades relacionadas con la agregación de proteína tau, tales como la EP. Esto sugiere que la senescencia de los astrocitos contribuye a la patogenia de la EA dado que promueve la hiperfosforilación de la proteína tau. (7) (11)

## 7. SENESCENCIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP)

La EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común tras la EA. A nivel anatomopatológico se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *pars compacta* de la sustancia negra, disminución de dopamina en el núcleo estriado y la presencia de agregados proteicos intraneuronales ricos en ubiquitina y  $\alpha$ -sinucleína que reciben el nombre de cuerpos y neuritas de Lewy. (2) (3) (6) (21) Estas alteraciones histológicas también se encuentran en la corteza de los hemisferios cerebrales, las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert, neuronas serotoninérgicas del

núcleo dorsal del rafe y del sistema olfatorio, el sistema límbico, los ganglios simpáticos y el plexo mientérico. (21)

Clínicamente, la EP se manifiesta como una alteración de la actividad motora del paciente. Los síntomas principales son el temblor en reposo, rigidez, bradicinesia, inestabilidad postural y trastornos de la marcha. Además, existen otras manifestaciones que no se encuentran en todos los pacientes afectados por la EP, como disartria, disfagia, congelación de la marcha, trastornos autonómicos, alteraciones sensitivas, del estado de ánimo y del sueño, deterioro cognitivo y demencia. (21)

Las personas más afectadas por esta patología tienen edad avanzada. Un 1 % de la población de más de 60 años presentan EP. (22) Sin embargo, al igual que en la EA, su patogénesis aún no está bien determinada. La exposición ambiental y los factores de riesgo genéticos que predisponen a la enfermedad representan un pequeño porcentaje de los casos, lo que sugiere que la etiología es más compleja. Una característica común de los pacientes con EP y los modelos murinos de esta enfermedad es la acumulación de microglía activada y astrocitos, lo que podría propiciar el aumento de las concentraciones locales de ROS y de sustancias inflamatorias. (2) (6) Esta inflamación crónica podría facilitar y derivar en la neurodegeneración. Por lo tanto, al igual que en la neuropatología de la EA, la neuroinflamación, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, acumulación de  $\alpha$ -sinucleína y, finalmente, la senescencia celular podrían agravar la progresión de esta enfermedad o estar implicadas en su etiopatogenia.

La teoría de la implicación de la senescencia celular en la génesis de la EP se basa en las siguientes evidencias: (3) (6)

- En la EP se produce un aumento de los niveles de SA- $\beta$ -gal en el LCR y cerebro de estos pacientes.
- Los pacientes con EP presentan un aumento del número de astrocitos senescentes en la sustancia negra.
- El paraquat, un herbicida citado con anterioridad por su implicación en la senescencia de los astrocitos humanos, es un factor de riesgo para el desarrollo de la EP.

## **7.1 MECANISMOS DE LA SENESCENCIA CELULAR IMPLICADOS EN LA EP**

La neuroinflamación, disfunción mitocondrial y otros mecanismos implicados en el desarrollo de la senescencia también parecen tener un papel fundamental en la patogenia de esta enfermedad.

### **7.1.1 NEUROINFLAMACIÓN**

La alta presencia de células senescentes y astrocitos envejecidos en los cerebros de pacientes con EP sugiere que la senescencia celular puede inducir la neuroinflamación, evento imprescindible para la neurodegeneración que tiene lugar en la enfermedad y, por tanto, podría ser empleada como diana terapéutica en los próximos años. (2)

### **7.1.2 CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA Y EPIGENÉTICOS**

Con respecto a las alteraciones en la regulación génica, en la EP la expresión de ciertos genes implicados en la síntesis de proteínas fundamentales en el ciclo celular, como p16<sup>INK4a</sup> y pRb, está elevada en los cerebros de estos pacientes. Un estudio que demostró el aumento de la expresión de pRb en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra demostró que la forma inactiva de la pRb (ppRb, por la fosforilación de la serina 795) tenía una distribución diferente en los casos de EP con respecto a los controles. En estas mismas neuronas de pacientes con EP se encuentran niveles elevados del factor de transcripción E2F-1, sugiriendo que la vía pRb/E2F-1 se activa en éstas y puede conducir a la apoptosis. (2) (3)

Además, se han encontrado cambios en los patrones de metilación del ADN en los cerebros de pacientes con la enfermedad, así como modificaciones post-traduccionales de las histonas y microRNAs, poniendo de manifiesto que los cambios epigenéticos también tienen un papel en la patogenia de la EP. Un ejemplo es el aumento de la histona fosforilada  $\gamma$ H2AX en los astrocitos de pacientes con la EP. (2) (10)

### **7.1.3 DISFUNCIÓN DE LA AUTOFAGIA, LISOSOMAS Y MITOCONDRIAS**

La alteración de la autofagia y de los lisosomas también cumple papeles esenciales en la patogénesis de esta enfermedad, dado que se han encontrado mutaciones en genes que producen defectos en estas vías moleculares en los pacientes con EP. (2)

La disfunción mitocondrial también juega un papel determinante en la patogenia de la EP, ya que se ha demostrado que genes relacionados con casos familiares y esporádicos de la enfermedad presentan mutaciones y que estas alteraciones afectan al funcionamiento de ciertas vías metabólicas mitocondriales. (2) (3) Además, debido a su tamaño y complejidad, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra requieren cantidades más elevadas de ATP para poder mantener el potencial de membrana de reposo, propagar el potencial de acción y permitir la transmisión sináptica, por lo que la producción de ROS durante la síntesis de ATP es mayor en éstas. (2)

Como se ha comentado en apartados anteriores, el estrés oxidativo es reconocido como factor inductor de la senescencia y está implicado en el proceso de neurodegeneración. En el caso de la EP, ya en los estadios iniciales de la enfermedad se observa un alto nivel de estrés oxidativo. Además, al igual que en la EA, dicho estrés y la pérdida progresiva de neuronas actúan como un mecanismo de retroalimentación positivo, agravando el desarrollo de esta patología. (2)

### **7.1.4 ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS**

Por otro lado, los daños en la molécula de ADN, la alteración de los procesos de reparación y el acortamiento de los telómeros también han sido propuestos como factores importantes en la disfunción del sistema dopaminérgico en la EP. (3) Con

respecto a este último, al igual que en la EA, los estudios realizados sobre la longitud de los telómeros y su implicación en el desarrollo de la EP han arrojado resultados contradictorios. Sin embargo, un metaanálisis que agrupó todos esos estudios concluyó que los pacientes con la EP no presentan cambios en la longitud de sus telómeros con respecto a los de los pacientes sanos, por lo que son necesarias más investigaciones que arrojen luz sobre este hecho. (2)

### **7.1.5 ALTERACIÓN DE LA PROTEOSTASIS**

Al igual que en la EA, la proteostasis también está alterada en los pacientes con EP. Al microscopio, la EP se caracteriza por el acúmulo intracelular de cuerpos de Lewy, insolubles, capaces de dañar a las neuronas. Se han descrito cambios en el funcionamiento del RE debido a su estrés, lo que activa la respuesta a proteínas mal plegadas para intentar devolver la normalidad al plegamiento y procesamiento de las proteínas. (2)

En la EP, el aumento de células senescentes podría estar asociado directamente con el aumento de agregados de  $\alpha$ -sinucleína. Además, se ha propuesto que la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo podrían ser en parte responsables de su acumulación. (2)

## **7.2 CÉLULAS GLIALES, SENESCENCIA CELULAR Y EP**

Como se ha comentado en la introducción de la EP, también se ha estudiado la implicación de las células gliales y su susceptibilidad a la senescencia para dilucidar su implicación en el inicio y progresión de esta patología.

### **7.2.1 ASTROCITOS**

Con respecto a la senescencia astrocítica y su implicación en la patogenia de la EP, Chinta et al. (2018) llevaron a cabo un estudio para determinar si la exposición ambiental al herbicida paraquat era un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad debido a su potencial papel como inductor de la senescencia astrocítica. Este compuesto genera radicales libres capaces de provocar estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. Como se ha descrito anteriormente, ambos fenómenos están implicados en el desarrollo de la senescencia celular. (14)

En este estudio se demostró la capacidad del paraquat para inducir la senescencia celular y el fenotipo SASP en los astrocitos, tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, esta exposición se asocia con un aumento del riesgo en el desarrollo de casos idiopáticos de EP. Por tanto, la exposición a ciertas toxinas ambientales promueve la acumulación de células senescentes en los cerebros de edad avanzada y podría contribuir a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas. (14)

La exposición en cultivos de astrocitos humanos al paraquat daba lugar a una parada de la proliferación y a un incremento de la expresión de características propias de la senescencia, tales como niveles disminuidos de laminina B1, aumento de la actividad

de Sa- $\beta$ -Gal, aumento de los niveles del mRNA de p16<sup>INK4a</sup> y de la misma proteína, así como aumento de la secreción de IL-6. Asimismo, estas células son más sensibles que los fibroblastos al efecto senescente del paraquat, dado que la dosis que induce la senescencia de los fibroblastos era letal para los astrocitos. Por tanto, existe un umbral de dosis a partir del cual el efecto es letal en las células, mientras que la exposición crónica a dosis bajas se relaciona con la aparición de casos esporádicos de EP. Por otro lado, la viabilidad de las neuronas dopaminérgicas y la proliferación y migración de las células progenitoras neurales se encuentra reducida en medios de cultivo con astrocitos senescentes. Por último, cuando se eliminan de forma selectiva los astrocitos senescentes inducidos por el paraquat se reprime el desarrollo de la neurodegeneración asociada con la EP. (14)

Como se ha comentado en apartados anteriores, los astrocitos son células fundamentales en el apoyo estructural, metabólico y trófico de las neuronas. Además, son capaces de proliferar en respuesta a daños del SNC. Sin embargo, la incapacidad de los astrocitos senescentes para dividirse podría exacerbar la neurodegeneración, puesto que la proliferación celular consiste en una respuesta ante el daño de los tejidos. Por otro lado, la secreción de citoquinas proinflamatorias dentro del contexto del SASP puede contribuir al deterioro de la función neuronal y favorecer la neurodegeneración que acontece con la edad. (14)

Todo esto sugiere que la senescencia astrocítica podría jugar un papel crítico en la patogenia de la EP y podría convertirse en una diana terapéutica en estos pacientes. (11) (14)

### **7.2.2 MICROGLÍA**

Los agregados de  $\alpha$ -sinucleína son capaces de activar las células de microglía, con la consecuente liberación de mediadores pro-inflamatorios, como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . (2) Esto se ha observado en muestras de LCR, suero y muestras procedentes de regiones dopaminérgicas del núcleo estriado de pacientes con EP. (3) Además, recientemente se han relacionado los niveles de IL-6 con la severidad de la enfermedad. (3) La activación de las células de microglía parece ser uno de los determinantes principales de la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra, hipocampo, córtex cingulado y córtex temporal. (2) Por otro lado, la MMP-3 se colocaliza junto la  $\alpha$ -sinucleína en los cuerpos de Lewy. Aun así, todavía no se ha demostrado si los niveles elevados de estas citoquinas son atribuidos al SASP en relación con la EP o si provienen del proceso de neuroinflamación, en parte establecido en la fisiopatología de la enfermedad. (3)

## 8. CONCLUSIONES

El concepto de la senescencia celular nació hace justo 60 años de la mano de Hayflick y Moorhead, quienes trataron de desenmascarar los procesos moleculares ocultos tras el cese de la división de las células. A partir de este momento, se realizaron numerosos estudios cuyo objetivo era aportar más datos y evidencia a la relación entre la senescencia y el desarrollo de diversas patologías relacionadas con la edad, como es el caso de las enfermedades neurodegenerativas.

La evidencia que sustenta las teorías actuales que apoyan la implicación de los factores inductores de la senescencia y los mecanismos que constituyen este fenómeno celular en la aparición y progresión de enfermedades neurodegenerativas, como la EA o la EP, es incompleta y se encuentra en pleno desarrollo. Sin embargo, los resultados obtenidos en numerosos estudios apuntan a que el compromiso del sistema inmunitario, la exposición a sustancias capaces de generar daño en las células y su ADN y la capacidad del organismo de mantener su supervivencia están detrás del desarrollo de este tipo de enfermedades cuya prevalencia se prevé que aumentará en los próximos años.

Como se ha reiterado a lo largo de este trabajo, los fallos en la reparación del daño celular y la consecuente acumulación de alteraciones moleculares parecen estar asociados con el envejecimiento. Asimismo, la interacción entre los factores genéticos de los individuos, los factores ambientales que nos rodean y la acumulación estocástica de daño irreparable en la molécula de ADN que acontece con la edad son determinantes en la posibilidad de desarrollar una enfermedad degenerativa. Dado que la senescencia celular nace de la necesidad del organismo por sobrevivir ante factores agresores con el fin de evitar que proliferen células potencialmente malignas y que la capacidad fagocítica de las células inmunitarias implicadas en su degradación se ve comprometida con el paso de los años, las células senescentes se van acumulando y pueden contribuir a la patogénesis de las enfermedades relacionadas con la edad. Por tanto, la senescencia celular puede ser considerada como un fenómeno de pleiotropía antagónico, dado que es capaz de ejercer como mecanismo antitumoral cuando aún no hay compromiso del sistema inmune o actuar como inductor del desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad.

En el caso de enfermedades neurodegenerativas como la EA y la EP, aún falta por aclarar si la senescencia es una causa o una consecuencia de la agregación de proteínas mal plegadas y los datos que se han manejado en la realización de este trabajo podrían ser refutados conforme avancen las investigaciones. Sin embargo, numerosos estudios sugieren que el deterioro de la función mitocondrial, la proteostasis y los sistemas de degradación lisosómicos y autofágicos, así como el desarrollo de cambios epigenéticos, cambios en la expresión de genes y otros eventos moleculares que se retroalimentan entre sí conforman parte de la etiología de estas enfermedades. Todos estos eventos determinan la acumulación de células senescentes, que tienen la capacidad de expandir este estado a otras células vecinas, y se ha relacionado la presencia de proteínas mal plegadas con el desarrollo de este fenotipo en las neuronas y células de la estirpe glial.

Dado el papel fundamental que tienen las neuronas y las células gliales en el correcto funcionamiento del cerebro, la adquisición de un fenotipo senescente en cualquiera de estas poblaciones celulares juega un papel fundamental tanto en la aparición como en la progresión de la neurodegeneración y del deterioro cognitivo característico de enfermedades neurodegenerativas como la EA y EP.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mis padres por todo el esfuerzo que han hecho por mí desde el momento en que pensaron en traerme al mundo. Han sido muchos años llenos de trabajo, sacrificio, esfuerzo y distancia, pero por fin acaba vuestra jornada laboral y ojalá disfrutéis de esta nueva etapa. Gracias por alimentar todas mis curiosidades cuando era una niña, por enseñarme lo que es la responsabilidad y la perseverancia y por acompañarme en el largo camino que ha supuesto llegar hasta aquí. Querer es poder y mi mejor herencia, sin duda, será mi educación.

Por otro lado, dar las gracias a Sergio, por haber sido fundamental en estos últimos dos años de sprint vital. Gracias por estar a pesar de la montaña rusa emocional que he sido en muchos momentos y por recordarme que estarás también ahora que llega el último empujón. Sabes de sobra todo lo demás.

También me gustaría dar las gracias a mi constancia, que ha sido imprescindible para descubrirme a mí misma, quitarme la culpa y ponerme de pie cuando la incompreensión dominaba mi tristeza y mi rabia. Ojalá seguir creciendo así.

Gracias a mis amigas y amigos, en especial a mis compañeras de piso por todo el tiempo que hemos pasado compartiendo nuestras inseguridades, miedos y ansiedad, y por todos los buenos momentos que hemos pasado en estos últimos meses como estudiantes. Esto es solo el principio.

Gracias a la música, a mis hermanos de Lunatic Catz, por ser la vía de escape perfecta los fines de semana y por esperarme este verano para volver a tocar juntos.

Gracias a Noemí y Carmen, mis tutoras en este trabajo, por darme la oportunidad de conocer más a fondo un tema tan interesante e inabarcable como este. Ojalá algún día se llegue a descubrir la implicación real de este fenómeno en las enfermedades que más afectan a personas de edad avanzada en el mundo.

Por último, gracias a mí misma por demostrarme que puedo con cualquier cosa.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Regulski MJ. Cellular Senescence: What, Why, and How. *Wounds Res* [Internet]. 2017;29(6):168–74. Available from: <https://www.woundsresearch.com/article/cellular-senescence-what-why-and-how>
2. Martínez-Cué C, Rueda N. Cellular Senescence in Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Neurosci*. 2020;14(February).
3. Kritsilis M, Rizou S V., Koutsoudaki PN, Evangelou K, Gorgoulis VG, Papadopoulos D. Ageing, cellular senescence and neurodegenerative disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(10).
4. Rhinn M, Ritschka B, Keyes WM. Cellular senescence in development, regeneration and disease. *Dev*. 2019;146(20).
5. Leonard Hayflick | Gerontology Wiki | Fandom [Internet]. [cited 2021 May 10]. Available from: [https://gerontology.wikia.org/wiki/Leonard\\_Hayflick](https://gerontology.wikia.org/wiki/Leonard_Hayflick)
6. Baker DJ, Petersen RC. Cellular senescence in brain aging and neurodegenerative diseases: Evidence and perspectives. Vol. 128, *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation; 2018. p. 1208–16.
7. Saez-Atienzar S, Masliah E. Cellular senescence and Alzheimer disease: the egg and the chicken scenario. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2020;21(8):433–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41583-020-0325-z>
8. Kaur J, Farr JN. Cellular senescence in age-related disorders. *Transl Res* [Internet]. 2020;226:96–104. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.06.007>
9. Rivera-Krstulović C, Duran-Aniotz C. La respuesta a proteínas mal plegadas como blanco terapéutico en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Med Chil*. 2020;148(2):216–23.
10. Chinta SJ, Woods G, Rane A, Demaria M, Campisi J, Andersen JK. Cellular senescence and the aging brain. *Exp Gerontol*. 2015;68:3–7.
11. Han X, Zhang T, Liu H, Mi Y, Gou X. Astrocyte Senescence and Alzheimer's Disease: A Review. *Front Aging Neurosci*. 2020;12(June):1–13.
12. Ligon Hadi A. Telómeros [Internet]. 2020 [cited 2021 May 10]. Available from: <http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/TelomereID30060SS.html>
13. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astroцитos en las enfermedades neurodegenerativas (I): Función y caracterización molecular. *Neurologia*. 2015;30(2):119–29.
14. Chinta SJ, Woods G, Demaria M, Rane A, Zou Y, McQuade A, et al. Cellular Senescence Is Induced by the Environmental Neurotoxin Paraquat and Contributes to Neuropathology Linked to Parkinson's Disease. *Cell Rep* [Internet]. 2018;22(4):930–40. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.12.092>

15. Yuan Y, Cruzat VF, Newshome P, Cheng J, Chen Y, Lu Y. Regulation of SIRT1 in aging: Roles in mitochondrial function and biogenesis. *Mech Ageing Dev.* 2016;155(1):10–21.
16. Seeley WW, Miller BL. Enfermedad de Alzheimer. In: Harrison : Principios de Medicina Interna 20ª Edición. 2018. p. 3108–14.
17. Hou Y, Dan X, Babbar M, Wei Y, Hasselbalch SG, Croteau DL, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(10):565–81.
18. Li M, Fu W, Wo L, Shu X, Liu F, Li C. MiR-128 and its target genes in tumorigenesis and metastasis. *Exp Cell Res [Internet].* 2013;319(20):3059–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.07.031>
19. Kuo LJ, Yang LX.  $\gamma$ -H2AX- A novel biomaker for DNA double-strand breaks. In *Vivo (Brooklyn).* 2008;22(3):305–10.
20. Wissler Gerdes, Erin O; Zhu, Yi; Weigand, Melanie; Tripathi, Utkarsh; C Burns, Terence; Tchkonja, Tamar; Kirkland JL. Cellular senescence in aging and age-related diseases: Implications for neurodegenerative diseases. *Int Rev Neurobiol [Internet].* 2020;155:203–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0074774220300507>
21. Olanow CW, Klein C, Schapira AH V. Enfermedad de Parkinson. In: Harrison : Principios de Medicina Interna 20ª Edición. 2018. p. 3120–32.
22. Calabrese V, Santoro A, Monti D, Crupi R, Di Paola R, Latteri S, et al. Aging and Parkinson's Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic Biol Med.* 2018;115(April 2017):80–91.